



HAL
open science

Les interactions protéine -polyphénol et leur influence sur la biodisponibilité des polyphénols. Proteins -polyphenols interactions : their nature and influence on polyphenol bioavailability

Coralie Dupas, Agnès Marsset-Baglieri, Marie-Noëlle Peyrat-Maillard

► To cite this version:

Coralie Dupas, Agnès Marsset-Baglieri, Marie-Noëlle Peyrat-Maillard. Les interactions protéine -polyphénol et leur influence sur la biodisponibilité des polyphénols. Proteins -polyphenols interactions : their nature and influence on polyphenol bioavailability. NAFAS, 2002, 9, pp.15-30. <hal-03943478>

HAL Id: hal-03943478

<https://hal.science/hal-03943478v1>

Submitted on 17 Jan 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire HAL, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

Les interactions protéine - polyphénol et leur influence sur la biodisponibilité des polyphénols.

Proteins - polyphenols interactions : their nature and influence on polyphenol bioavailability.

Coralie DUPAS, Agnès MARSSET-BAGLIERI, Marie-Noëlle PEYRAT-MAILLARD,
Claudette BERSET.

Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires (ENSIA), Département Science de l'Aliment, Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles : antioxydants, arômes, colorants, 1 avenue des Olympiades - 91744 Massy cedex – France. E-mail : berset@ensia.inra.fr

Résumé

S'il est admis que la consommation de polyphénols serait bénéfique pour la santé, on ne dispose en revanche que de très peu de données concernant l'influence de la matrice alimentaire sur la biodisponibilité de ces composés. La formation de complexes protéines – polyphénols pourrait être un des facteurs limitant l'absorption des composés phénoliques. Ces complexes peuvent se former dans la matrice alimentaire elle-même. Ils sont alors formés de liaisons covalentes et la majeure partie ne semble être ni dissociée ni absorbée lors de la digestion. Lorsque les polyphénols sont ingérés non complexés, d'autres complexes peuvent également se former dans l'organisme. Ceux-ci sont responsables de phénomènes tels que l'astringence ou les propriétés anti-nutritionnelles des tanins. Ces complexes, de nature réversible, reposent sur des liaisons de faible énergie, et utilisent des protéines d'origine endogène et éventuellement une partie de celles de la ration alimentaire. Ils

ne seraient ni dissociés ni absorbés lors de la digestion. Au contraire, les conditions de pH de cette dernière favoriseraient leur formation.

Mots-clefs : polyphénols, protéines, complexes, interaction, astringence, biodisponibilité, antioxydant.

Abstract

If there is an increasing evidence of the positive health benefits of a high dietary intake of polyphenols, only few informations are available on the influence of the food matrix on their bioavailability. The formation of complexes between proteins and polyphenols could be an hindrance to the absorption of polyphenolic compounds. These complexes may occur in the food matrix itself. They involve covalent bounds and most of it may be neither dissociated nor absorbed during digestion. If polyphenols are not complexed when ingested, another kind of protein - polyphenol interaction may occur into the body. This can account for phenomenons such as astringency or anti-nutritionnal properties of tannins. These reversible complexes involve low-energy bounds. The involved proteins may be of endogenous or dietary origin. These complexes would also be neither dissociated nor absorbed during digestion, where the pH conditions would enhance the formation of complexes.

Keywords: polyphenolic compounds, proteins, complexes, interaction, astringency, bioavailability, antioxidant.

Introduction

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, impliqués dans de nombreuses facettes de leurs systèmes biologiques : pigmentation, mécanismes de croissance et de reproduction, protection contre les prédateurs... Ces composés d'intérêt biologique sont donc principalement présents dans les végétaux (fruits, légumes, céréales...) et dans les produits qui en dérivent (vin, thé, bière, jus de fruits...). L'homme en consommerait jusqu'à un gramme par jour [1], mais il est difficile de donner une valeur exacte quant aux apports de l'alimentation en ces composés tant leurs sources sont nombreuses, leur analyse parfois délicate et leur quantité variable au sein d'une même variété de céréale, par exemple [2].

Une des particularités des polyphénols réside dans leur incroyable diversité, puisque l'on dénombre à l'heure actuelle plus de 8000 composés phénoliques, dont 5000 pour la sous-classe des flavonoïdes [3]. On peut cependant les rassembler en trois grands groupes, de la masse moléculaire la plus faible à la plus élevée : les acides phénoliques et composés phénoliques simples, les flavonoïdes et les tanins condensés ou hydrolysables (figure 1).

Ces composés sont actuellement l'objet d'une littérature abondante. En effet, leurs propriétés bénéfiques pour la santé humaine seraient nombreuses : effets protecteurs contre les maladies cardio-vasculaires [4, 5] effets anti-inflammatoires, ou encore effets anti-viraux [6] pour n'en citer que quelques uns. Elles seraient dues à leur structure particulière qui permet une stabilisation efficace des radicaux libres impliqués dans l'apparition de ces pathologies.

La plupart des études mettant en évidence une relation de cause à effet entre la consommation de polyphénols et leur action *in vivo* consistent en une mise en relation d'études épidémiologiques, dont les données sont parfois imprécises et peu spécifiques, avec notamment une surestimation des apports alimentaires en produits végétaux due à l'image "santé" forte véhiculée par ce type de produits [7], avec des observations réalisées *in vitro*. Ce type de raisonnement, s'il a l'avantage d'être

simple à mettre en oeuvre, ne tient pas compte de la biodisponibilité des produits étudiés et en particulier de leur devenir métabolique (ingestion, absorption, modifications chimiques, distribution, utilisation, dégradation). Il occulte entre autres les modifications que peut subir le composé après ingestion et ne rend pas compte de ses formes circulantes, formes non nécessairement actives, ni de leurs concentrations dans les tissus et fluides biologiques. La connaissance de ces données semble pourtant capitale si l'on veut pouvoir affirmer que l'apport quotidien de tel ou tel composé a réellement un effet bénéfique sur l'organisme.

De plus, la biodisponibilité des polyphénols pourrait de plus être entravée par leur capacité à se lier à d'autres constituants, aussi bien dans l'aliment que dans l'organisme, tels que les protéines par exemple. En effet, SERAFINI *et al.* [8] montrent que l'addition de 25 % de lait à une infusion de thé vert ou noir annule totalement le pouvoir antioxydant acquis par le plasma après ingestion de la même quantité de thé pur chez l'homme (figure 2) et attribuent ce phénomène à la formation de complexes non-dissociés au pH gastrique, entraînant la non-absorption des polyphénols et donc la disparition du pouvoir antioxydant. De même, ARTS *et al.*[9] montrent que l'incubation *in vitro* d'extraits de thé vert ou noir avec différentes protéines lactières (caséines et albumine) se traduit par un masquage partiel du pouvoir antioxydant des polyphénols du thé.

Ces études suggèrent que la conséquence majeure à la formation des complexes protéines - polyphénols, qu'elle ait lieu dans l'aliment ou dans l'organisme, serait l'existence d'une modification de l'absorption des polyphénols due à la complexation. Ces complexes pourraient alors être à l'origine d'une diminution du pouvoir antioxydant acquis suite à l'ingestion de polyphénols, qu'ils soient absorbés ou non.

Plusieurs questions se posent alors: les complexes protéines - polyphénols se forment-ils dans l'aliment et/ou dans l'organisme ? Quelle est la nature des interactions impliquées dans ces complexes ? Existe-t-il une réelle influence de ce phénomène sur la biodisponibilité des polyphénols?

1. Les complexes protéines-polyphénols se forment-ils dans l'aliment ou dans l'organisme ?

Deux niveaux d'interactions sont envisageables : soit l'interaction a lieu dans l'aliment, et ce sont donc des complexes protéines - polyphénols ou des molécules dérivées des polyphénols (complexes quinones-protéines) qui sont ingérés par la suite, soit l'interaction se produit dans l'organisme après ingestion d'aliments contenant des polyphénols.

1.1. Interactions se produisant dans l'aliment :

Les interactions entre les différents constituants d'un aliment, et en particulier celles faisant intervenir protéines et polyphénols, sont nombreuses. Le brunissement enzymatique des fruits en est un exemple : la brève interaction entre les polyphénols du fruit et une enzyme, la polyphénol oxydase, modifie de façon radicale la couleur du fruit. Cependant, le complexe formé dans ce cas est de nature extrêmement fugace et transitoire. Il n'en est pas de même dans le cas du trouble des boissons (bière, jus de fruits...). Selon SIEBERT [10], plusieurs phénomènes en peuvent être à l'origine : une prolifération microbienne, la cristallisation d'amidon ou de pentosanes, une élimination insuffisante d'auxiliaires de fabrication tels que des agents de filtration, ou encore la formation de complexes protéines - polyphénols.

Deux étapes distinctes peuvent en fait être observées dans la formation de cette dernière source de trouble :

- Le trouble réversible ("*chill haze*"), étape initiale durant laquelle les associations protéines polyphénols sont faibles et les complexes plus ou moins solubles. Ce trouble peut être facilement dissipé par un simple chauffage.

- Le trouble irréversible, processus demandant quelques jours et se traduisant par l'apparition d'amas colloïdaux indissociables finissant par sédimenter.

Dans le cas de la bière par exemple, les principaux polyphénols impliqués sont la procyanidine B3 et la prodelphinidine B3, polymères de (+)-catéchine et/ou de (+)-gallocatéchine. Selon des études récentes réalisées en systèmes modèles [11], il semble cependant que des molécules de taille plus petite telles que la (+)-catéchine puissent également intervenir dans la formation de ce type de trouble, à condition d'être présentes en quantité suffisante dans le milieu. Lors de la conservation de la bière, ces polyphénols interagissent avec des protéines issues de l'orge, les prolamines et l'hordéine, protéines qui ont la particularité d'être riches en proline.

De même, les interactions protéines-tanins sont à l'origine de l'apparition d'un trouble dans le jus de pomme [12]. Ces troubles, à l'origine d'une diminution de l'acceptabilité du produit par le consommateur, sont donc souvent considérés comme un défaut que l'on cherche à éliminer. Cependant, dans certains aliments tels que le cacao, les interactions protéines-polyphénols peuvent être recherchées. En effet, les interactions entre protéines et leucoanthocyanidines se produisant durant l'étape de fermentation de ce produit seraient à l'origine d'une diminution de son astringence [13].

1.2. Interactions se produisant dans l'organisme :

1.2.1. Interactions polyphénols - protéines salivaires :

Lorsque l'on goûte des produits tels que le vin rouge jeune ou des fruits encore verts, on ressent souvent une sensation râpeuse sur la langue associée à une sécheresse buccale et à un sentiment de contraction du palais. Ces sensations, non immédiates, ne sont pas circonscrites à une région particulière de la bouche, ce qui suggère qu'elles ne sont pas dues à un phénomène classique d'interaction avec des bourgeons gustatifs. En revanche, la sensation de sécheresse buccale laisse

supposer une implication de la salive dans le phénomène. Ces observations s'appliquent également à de nombreux remèdes utilisés dans la médecine chinoise comme agents anti-diarrhéiques ou anti-hémorragiques, remèdes dont on considère en général les polyphénols comme étant le principe actif [14]. Ces utilisations médicales impliquant une liaison des protéines avec les polyphénols, un rapprochement avec une précipitation possible des protéines salivaires par les polyphénols dans le cas des sensations décrites ci-dessus a rapidement été établi.

Ce mode d'action a donné son nom à ce phénomène : l'astringence, du latin *ad* (vers) et *stringere* (lier). Les protéines impliquées seraient essentiellement des protéines riches en proline. MEHANSHO *et al.* [15] ont effet montré que la consommation prolongée (3 jours minimum) d'aliments riches en tanins pouvait induire chez le rat une hypertrophie de la glande parotide sécrétant la salive, ainsi que la sécrétion de nouvelles glycoprotéines dont le contenu en acides aminés est caractérisé par une grande richesse en proline, en acide glutamique et en glycine et une déficience en acides aminés soufrés. Ces protéines présentent neuf fois plus d'affinité pour les tanins que la Sérum Albumine Bovine lorsqu'on les met en compétition pour la fixation à ces derniers. Leur sécrétion (elles ne représentent en temps normal que 10% des protéines salivaires) serait induite par un gène situé sur le chromosome 8 du rat [15]. Chez l'homme en revanche, ces protéines sont constitutives et peuvent représenter jusqu'à 70% des protéines de la salive. Elles y coexistent sous trois formes : acide, basique et glycosylée. S'il n'a pas été possible d'attribuer un rôle spécifique à chacune d'elle, on remarque que les protéines de la fraction basique, les plus riches en proline, ont une affinité plus forte que les autres pour les tanins hydrolysables [16].

Si l'astringence semble désagréable de prime abord, encore qu'il s'agisse d'une qualité recherchée dans la bière à laquelle elle confère une note de fraîcheur, il s'agit cependant d'un phénomène utile aux végétaux, puisqu'il permet d'en éloigner les prédateurs. Les molécules qui la provoquent sont essentiellement les tanins condensés tels que les procyanidines présentes dans les fruits et légumes [14]. Dans une moindre mesure, on trouve également les tanins hydrolysables de certaines noix et

plantes médicinales [16] tels que l'acide tannique ou les dérivés formés par condensation et oxydation enzymatique des polyphénols lors de la fabrication du thé noir tels que la théaflavine et la théarubigine. Enfin, les hypothèses les plus récentes font également intervenir certains composés phénoliques de masse moléculaire plus faible tels que le pyrogallol, le résorcinol ou encore l'acide chlorogénique [14]. Bien que longtemps négligées, ces molécules peuvent participer à l'astringence pour une part non négligeable puisque le phénomène de complexation - précipitation nécessite uniquement la présence du groupement phénolique, à condition de se trouver en concentration suffisante dans le milieu [14].

La plupart des travaux consacrés à l'étude du phénomène d'astringence font ressortir l'importance de la taille des composés polyphénoliques. Ainsi, plus le degré de polymérisation de la molécule est important, et plus la sensation d'amertume également ressentie lors de la consommation de tanins s'efface au profit de la sensation d'astringence [17]. De même, la capacité de précipitation des protéines par les procyanidines augmente avec le degré de polymérisation de ces dernières [18]. La capacité des polyphénols à changer de conformation et la présence de groupements phénoliques accessibles semblent être également importantes [19]. Si ce mécanisme peut sembler consommateur de protéines endogènes, il présente l'avantage de protéger les protéines des muqueuses buccales et les protéines épithéliales du palais, qui seraient dans le cas contraire également menacées de complexation par les polyphénols [16].

1.2.2. Interactions polyphénols - protéines gastro-intestinales :

La plupart des études considèrent les polyphénols, en particulier les tanins [20] [21] [22] et dans une moindre mesure les composés de masse moléculaire plus faible qui les accompagnent [23], comme des composés anti-nutritionnels. Ils seraient notamment à l'origine d'une altération de la digestion des protéines (augmentation de l'excrétion azotée, [20]), et provoqueraient une diminution du gain de poids chez le rat [6]. Plusieurs hypothèses ont été suggérées pour expliquer ces résultats :

1. Une **complexation des protéines alimentaires par les polyphénols**, les rendant moins accessibles à l'action des enzymes digestives. Ainsi, chez des rats soumis pendant 5 semaines à un régime enrichi en tanins condensés extraits de téguments de caroube, BRAVO *et al.* [24] observent une augmentation de l'excrétion azotée urinaire et fécale ; une augmentation de la masse fécale totale ainsi qu'une diminution du gain de poids des animaux (tableau I). La digestibilité apparente des protéines du régime est également affectée par la présence des tanins

2. Une **diminution de l'activité enzymatique par complexation des enzymes digestives par les polyphénols** [6]. Réalisée *in vivo* sur des rats ayant ingéré un régime enrichi en tanins, l'étude de GRIFFITH et MOSELEY [25] montre une diminution de l'activité enzymatique de deux enzymes du système digestif (trypsine et α -amylase) par rapport à un témoin n'ayant pas reçu ces polyphénols. De plus, l'ajout de polyvinylpolypyrrolidone dans le milieu réactionnel, agent connu pour sa capacité à fixer les polyphénols, permet de retrouver une activité enzymatique identique à celle constatée pour le témoin dans le cas de la trypsine. Les auteurs en concluent donc que la complexation des enzymes par les tanins est à l'origine de la diminution de l'activité constatée. Un mécanisme d'inhibition non compétitive serait mis en cause.

Ce phénomène pourrait donc expliquer en partie la diminution de gain de poids des animaux ayant reçu des tanins. Cependant, quantitativement, l'hypothèse de l'altération de la digestion des protéines par une diminution de l'activité enzymatique ne saurait expliquer à elle seule une telle augmentation de la quantité d'azote fécale. Il est de plus à noter que les premiers résultats confortant cette hypothèse ont été obtenus *in vitro*, type d'études dans lequel le seul substrat protéique à complexer dans le milieu réactionnel est en général l'enzyme, et que la majorité des études réalisées montrent une diminution de l'activité enzymatique plutôt qu'une complexation enzymes digestives-polyphénols [26]. Ces expérimentations nécessitaient donc une confirmation par des expériences *in vivo*.

3. Une **origine endogène** des protéines excrétées au niveau fécal et urinaire suite à l'ingestion des polyphénols. En effet, les calculs de digestibilité apparente des protéines ne prennent souvent en compte que les apports protéiques alimentaires et les protéines excrétées, en supposant que ces dernières proviennent exclusivement de la ration alimentaire [26]. Or elles peuvent être d'origine endogène comme le suggèrent les travaux de SHAHKHALILI *et al.* [27]. Ces auteurs ont perfusé, à des rats soumis pendant huit jours à un régime enrichi en thé noir, de la ^{15}N -glycine afin d'effectuer un marquage isotopique des protéines endogènes. Le régime a été poursuivi pendant quatre jours durant lesquels les fèces ont été recueillies puis analysées. Cette analyse a révélé la présence d'azote isotopique en proportion directement corrélée à l'augmentation de l'azote fécal total due aux tanins du thé noir, ce qui permet de valider cette troisième hypothèse.

La plupart des études ne se préoccupent pas de déterminer à quel niveau exactement se forment les complexes dans le système digestif, constatant seulement leurs effets délétères. Les tanins y sont systématiquement considérés comme des composés indésirables, ainsi l'accent est-il toujours mis sur la diminution de la quantité des protéines alimentaires disponibles et de leur digestibilité. Outre les interactions mettant en œuvre les protéines salivaires et conduisant au phénomène d'astringence, il est possible de dégager deux autres niveaux de formation des complexes protéines - polyphénols dans l'organisme : l'estomac et l'intestin. FREITAS et MATEUS [19] montrent que le pH du système gastro-intestinal n'est pas défavorable à la formation de certains complexes, puisque celle-ci présente deux optima, l'un à pH 3,5 et l'autre à pH 5,0. De plus, les travaux d'ABIA et FRY [28] indiquent que des complexes sont susceptibles de se former dès l'estomac. Ces auteurs ont en effet gavé des rats avec des proanthocyanidines extraites de téguments de caroube marquées au ^{14}C . L'étape de complexation salivaire est donc éliminée puisque le produit est introduit directement par sonde gastrique. Quatre heures après le gavage, des complexes protéines - polyphénols ont été retrouvés dans toutes les parties du système digestif des animaux : l'estomac, l'intestin grêle, le cæcum et le colon (figure 3). La solution infusée ne contenant pas de protéines, la probabilité de

complexation avec celles provenant de la ration alimentaire est réduite, mais non nulle cependant puisque les rats avaient libre accès avant et après le gavage à une nourriture contenant des protéines. On peut donc penser qu'une bonne partie des protéines complexées proviendrait de la muqueuse du système digestif, ce qui serait cohérent avec certaines observations rapportant un endommagement des muqueuses digestives suite à l'ingestion de tanins en forte quantité [6].

Il est probable en fait que tous les mécanismes supposés (complexation de protéines endogènes - salivaires et/ou gastro-intestinales - et complexation de protéines alimentaires, inhibition des enzymes digestives...) coexistent, dans une plus ou moins grande mesure. Un dernier niveau peut encore être envisagé, comme le suggèrent plusieurs études *in vitro* récentes [29] [30] : une complexation au niveau sanguin qui masquerait le pouvoir antioxydant des polyphénols si ces derniers sont bien absorbés.

Cependant, il faut noter que les études sur l'homme sont encore rares dans ce domaine, les recherches se concentrant presque exclusivement sur l'alimentation animale ; de même, l'étude de complexes qui pourraient résulter de la présence de polyphénols de bas poids moléculaire est largement négligée au profit de celle des complexes tanins – protéines. Enfin, les travaux sont souvent menés en utilisant les parties de graines et fruits riches en polyphénols, à savoir les téguments, que les pratiques réelles d'alimentation animale amènent souvent à éliminer avant l'administration aux animaux.

2. Quelle est la nature des interactions impliquées dans les complexes protéines / polyphénols ?

L'élucidation des mécanismes de formation et de la nature des interactions protéines - polyphénols n'est pas un sujet d'étude récent. En effet, l'utilisation ancestrale et empirique de ce phénomène dans

le tannage du cuir amenait Sir Humphry Davy, dès 1803, à définir le terme "tanin" pour désigner la "matière astringente des végétaux" utilisée dans ce procédé. L'évolution des méthodes de mesure a permis depuis de mieux caractériser ces interactions et de réaliser ainsi que ces complexes, s'ils sont largement présents dans l'industrie alimentaire, sont aussi largement impliqués dans bon nombre de phénomènes biologiques, tels que la formation de l'exosquelette des insectes, de l'humus ou encore dans la nécrose des tissus végétaux [31].

De fait, qu'il s'agisse de complexes formés dans un organisme animal ou végétal, ou de complexes résultant d'un procédé de fabrication, le mécanisme mis en jeu est le même et se compose de deux phases :

- Une phase réversible : formation par liaisons de faible énergie de complexes solubles qui finissent par précipiter. Elle représente soit le type de complexes se formant dans l'organisme lorsque les polyphénols sont ingérés non complexés, soit la première étape de la formation des complexes trouvés dans les aliments;
- Une phase irréversible : formation de complexes comportant des liaisons covalentes. Elle demande davantage de temps et représente plutôt le type de complexes trouvés dans des aliments ayant subi une transformation industrielle (bière, jus de fruits).

2.1. La complexation réversible :

2.1.1. Approche empirique :

Différentes méthodes de mesure ont été utilisées afin de mieux comprendre le phénomène de complexation. Elles ont non seulement permis de définir des facteurs favorisant la complexation et de poser les bases de l'élucidation de la structure tridimensionnelle des complexes, mais aussi de déterminer les facteurs permettant la dissociation des complexes formés, mettant en évidence la

nature des liaisons protéines - polyphénols. Plusieurs facteurs favorisent cette complexation : les concentrations relatives des différents protagonistes, la richesse en proline de la protéine, la structure et flexibilité des différents intervenants, la taille des polyphénols et la proximité des groupements OH sur le composé phénolique.

2.1.1.1. Concentrations relatives des différents protagonistes :

SIEBERT *et al.* [11] remarquent que l'intensité du trouble formé dans les complexes gélatine - acide tannique ou gliadines - (+)-catéchine est reliée à la concentration des deux protagonistes de la façon suivante : pour une concentration en protéine donnée, si l'on augmente la concentration en polyphénols, on observe tout d'abord une élévation de l'intensité du trouble qui s'atténue ensuite, passé un certain seuil. Ils suggèrent l'existence d'un système dans lequel chacune des molécules aurait un nombre limité de sites de fixation. Ainsi, lorsque le nombre de sites de fixation en présence est équivalent pour les deux protagonistes, un réseau de liaisons est à même de s'établir [32], augmentant le trouble contrairement aux situations de déséquilibre où les particules, plus petites, induisent une diffraction de la lumière moins importante, donc un trouble de plus faible intensité.

Ces différentes observations rejoignent celles rapportées en 1988 par HASLAM et LILLEY [14]. Ils ont en effet montré que lorsque la concentration en protéines était faible par rapport à la concentration en polyphénols, on observait une perte de la solubilité de la protéine et la formation de particules de taille faible dans le cas des composés comportant plusieurs groupements phénoliques, alors que dans le cas de monophénols, on constatait seulement une diminution rapide du caractère hydrophile de la protéine.

Les auteurs suggèrent d'ailleurs que cette diminution du caractère hydrophile, observée en présence de mono- ou de polyphénols, serait due à la fixation des composés phénoliques sur toute la surface extérieure de la protéine (figure 4). CHARLTON *et al.* [32] confirment cette hypothèse par des

données obtenues par Résonance Magnétique Nucléaire et montrent de plus l'existence d'un seuil critique de recouvrement de la protéine par les composés phénoliques. Lorsque ce seuil est atteint, une précipitation expliquant le changement observable de la stœchiométrie des agrégats intervient rapidement : une concentration plus importante en polyphénols est nécessaire pour faire précipiter les protéines dans une solution où elles sont diluées que dans une solution où elles sont concentrées. Toutefois, en présence d'un excès de protéines, on observe la redissolution des complexes. HASLAM et LILLEY [14] expliquent ce phénomène par une agrégation des protéines dans laquelle les polyphénols agiraient comme ligands à sites de liaison multiples et feraient diminuer le caractère hydrophile de l'agrégat en surface, ce qui se traduirait par sa précipitation (figure 4).

Dans tous les cas, les auteurs suggèrent que ces complexations protéines - polyphénols mettent essentiellement en jeu un phénomène de surface.

2.1.1.2. Richesse en proline de la protéine :

Comme nous l'avons déjà remarqué en évoquant le phénomène d'astringence, la richesse en proline semble être un caractère déterminant dans les phénomènes de complexation réversible. En effet, lorsque l'on ajoute différents homopolymères d'acides aminés à une solution de (+)-catéchine, les peptides les plus à même de former un trouble sont de type polyproline, la plupart des autres polymères testés formant peu ou pas de trouble [11]. Cette observation se retrouve d'ailleurs quel que soit le pH testé [33].

La proline serait en effet le constituant majeur d'un site de liaison aux polyphénols constitué de un à dix acides aminés selon la taille de la molécule à lier [32]. Le résidu proline possède un hétérocycle rigide incluant le groupement amine impliqué dans la liaison peptidique. Cette particularité structurale imprime aux chaînes polypeptidiques contenant ce résidu une courbure dans l'espace, ce qui peut participer à la formation de "poches hydrophobes" dans la structure des protéines. On peut

de plus noter que la turbidité augmente avec le nombre de carbones dans les chaînes latérales aliphatiques des résidus, ce qui est corrélé avec l'hydrophobie des résidus [33].

2.1.1.3. Structure et flexibilité des différents intervenants :

La flexibilité, notamment la capacité à changer d'organisation spatiale, semble être un des facteurs clés dans le phénomène de complexation. En effet, selon SPENCER *et al.* [34], la formation de liaisons biphényles intramoléculaires au sein du D-galloyl-glucose réduit considérablement la mobilité relative de la molécule ainsi que sa capacité à se lier aux protéines.

2.1.1.4. Taille des polyphénols :

SIEBERT [10] évoque l'influence du degré de polymérisation de polymères de (+)-catéchine sur l'intensité du trouble détecté en solution lorsque ceux-ci mis en contact avec de la Sérum Albumine Bovine. Il semble en effet que la complexation est d'autant plus forte que la masse moléculaire des polyphénols et le nombre de groupements OH accessibles dans la molécule sont élevés, suggérant ainsi que les OH phénoliques seraient impliqués dans la complexation [10].

Il semble par ailleurs que des interactions puissent également exister avec des composés phénoliques de masse moléculaire relativement faible, à condition que ceux-ci soient maintenus en concentration suffisante dans le milieu [34]. BARTHOLOME *et al.* [35] ont par exemple montré l'existence d'interactions entre la Sérum Albumine Bovine et des acides phénoliques tels que l'acide caféique.

2.1.1.5. Proximité des groupements OH sur le composé phénolique :

La proximité des groupements phénoliques sur la molécule semble favoriser la solidité de la liaison formée, comme cela a été mis en évidence par microcalorimétrie, méthode dans laquelle on évalue la quantité d'énergie libre de transfert de la protéine d'une solution aqueuse à une solution contenant un ligand, ici polyphénolique [10]. Ainsi, si l'on représente les quantités d'énergie libre mesurées

lors de la liaison de molécules comportant différents motifs phénoliques à de la Sérum Albumine Bovine, on remarque que les *o*-diphénols forment des complexes plus solides que les *m*-diphénols, et que les meilleurs résultats sont obtenus avec des triphénols.

On peut donc penser que les composés phénoliques se lient aux protéines *via* leurs groupements OH en plusieurs points, ce qui nécessite probablement un repositionnement spatial du polyphénol vis-à-vis des sites de liaison sur la protéine (sites riches en proline), d'où l'importance de la mobilité des différents groupes les uns par rapport aux autres.

2.1.2. Existence de liaisons hydrogène et hydrophobes:

Plusieurs expériences de modification de divers paramètres du milieu réactionnel ont permis de mieux comprendre la nature des liaisons.

L'ajout de produits accepteurs de liaisons hydrogène ou de détergents agissant par interaction hydrophobes avec les protéines tels que l'acétone, l'urée, le polyéthylène glycol, le dodécyl sulfate de sodium ou encore la polyvinylpyrrolidone [31] suffit à dissocier les complexes de nature réversible.. On peut donc penser que si ces produits sont capables d'entrer en compétition avec le polyphénol pour la liaison avec la protéine, c'est probablement que les liaisons impliquées dans la complexation sont de même nature que celles impliquant ces détergents, à savoir des interactions hydrophobes et des liaisons hydrogène. En revanche, diverses observations, telles que le fait que l'ajout de sel dans la bière n'empêche pas l'apparition du trouble en solution [10], indiquent que la nature de ces liaisons ne serait pas ionique.

YOKOTSUKA et SINGLETON [36] observent lors de l'étude de la complexation de polymères riches en proline et de polyphénols de masses moléculaires variables extraits de pépins de raisin, que quelle que soit la taille des intervenants à pH 3,0, plus la température est importante (de 4°C à 25°C), et plus la taille des particules et la quantité de polyphénols libre résiduelle augmentent alors

que la turbidité du milieu diminue, ce qui semble indiquer une complexation de moindre ampleur. A 4°C, les mouvements browniens dus à l'agitation thermique sont faibles, ce qui favorise les liaisons hydrogène. Le rôle de ces liaisons ne serait donc pas négligeable dans le phénomène. Néanmoins, SIEBERT *et al* [11] observant la formation de complexes à 80°C, des interactions hydrophobes sont probablement également impliquées puisqu'elles sont en général favorisées par la chaleur.

Les travaux de NACZK *et al.* [37] montrent que le pH optimal de précipitation de différentes protéines avec des tanins condensés se trouve à 0,3 unités pH sous leur pH isoélectrique, soit à un pH d'environ 2-3 pour quatre des protéines testées. Ceci suggère tout d'abord que le phénomène de précipitation serait favorisé par la neutralité de la protéine et que la nature des liaisons ne serait donc pas ionique. D'autre part, si l'on considère les valeurs de pH, il semble que non seulement les complexes ne seraient pas dissociés au niveau de l'estomac, mais encore que les conditions de pH pourraient y être favorables à la formation de complexes.

2.1.3. Modélisation des complexes réversibles :

Suite à ces observations, un mécanisme de formation des complexes protéines - polyphénols de nature réversible peut être proposé:

Dans une première étape, les deux molécules (protéine et polyphénol) s'orientent l'une par rapport à l'autre, guidées par des interactions hydrophobes, ce qui expliquerait la dépendance de la capacité de flexibilité conformationnelle du polyphénol que nous évoquée précédemment.

La présence d'eau est indispensable à la formation des complexes puisqu'elle permet le rapprochement des deux molécules. En effet, les interactions hydrophobes résultent de la tendance naturelle qu'ont les groupements hydrophobes à réduire leur sphère de solvatation et donc leur surface en contact avec l'eau. Cette exclusion du solvant se traduit finalement par la précipitation des complexes hors de la solution, ce qui correspond bien au phénomène observé.

La liaison s'effectuerait ainsi dans une poche hydrophobe de la protéine (figure 5), constituée en grande partie de résidus proline [34] mais également de résidus glycine et arginine comme le montrent BAXTER *et al.* [38] grâce à des données obtenues par résonance magnétique nucléaire (R.M.N.) avec des peptides de synthèse.

Des phénomènes d'agrégation entre les protéines se produisent lorsque la concentration en protéines dans le milieu augmente. Cette agrégation a pour résultat final la précipitation de complexes de taille importante. De ce fait, la structure intime de ces agrégats n'a longtemps pas pu être étudiée directement. Cependant, étant donné la ressemblance de structure entre la caféine et les peptides, on peut raisonnablement extrapoler les données obtenues par diffraction des rayons X et R.M.N. dans le cas des complexes de la caféine avec les polyphénols [14]. On observe une structure tridimensionnelle due à l'empilement de "couches" polyphénol - caféine - polyphénol séparées les unes des autres d'environ 3,4 Å. Cet empilement est dû à des liaisons faibles non covalentes. En effet, on peut observer que les groupements phénoliques se trouvent face à face avec les hétérocycles à 6 atomes de la caféine, ce qui s'explique par des interactions électrostatiques entre les deux cycles : il y a juxtaposition des groupements polarisables. BAXTER *et al.* [38] retrouvent par R.M.N. des résultats similaires à ce modèle longtemps resté la meilleure approximation du phénomène. En étudiant les interactions entre le gallate de propyle et des peptides de synthèse dont la séquence est très riche en proline, ils montrent que les interactions peptide - polyphénol impliquent bien un empilement des cycles similaires et rappellent l'importance des interactions hydrophobes dans le phénomène.

Des liaisons hydrogène se formeraient en effet entre les groupements phénoliques et les groupements polaires de la protéine [34]. Le fait que ces liaisons impliquent le OH phénolique pourrait être à l'origine du masquage du pouvoir antioxydant constaté dans les systèmes biologiques suite aux phénomènes de complexation [29]. L'importance relative des interactions hydrophobes par rapport aux liaisons hydrogène lors de cette phase n'est en revanche pas bien connue.

2.2. La complexation irréversible:

Cette complexation, dont l'apparition demande un certain temps, se produit dans les produits alimentaires ayant subi des traitements plus ou moins drastiques. SHAMANTHAKA et RAO [39] citent par exemple la formation de liaisons covalentes entre l'acide chlorogénique et les protéines de la graine de tournesol pouvant intervenir lors de l'extraction de ces dernières en conditions basiques. L'établissement de ces nouvelles liaisons est facilitée par le rapprochement occasionné par les complexes formés dans la phase réversible, et favorisée par l'ajout d'agents extérieurs tels que l'oxygène.

Deux phénomènes distincts peuvent se produire selon le type de produit alimentaire et le traitement qu'il reçoit (pH, présence d'enzymes et/ou d'ions métalliques dans le milieu), mais dans les deux cas, on retrouve au final des complexes caractérisés par des liaisons covalentes entre les protéines et les polyphénols, accompagnés de divers produits secondaires de réaction [31].

2.2.1. En milieu acide :

A $\text{pH} \leq 4$, on observe une rupture de la liaison inter-flavanol des proanthocyanidines, ce qui aboutit à la formation de carbocations très électrophiles. Ceux-ci réagissent rapidement avec les groupements nucléophiles se trouvant à proximité. En l'absence de tels groupements, il peut se produire des phénomènes de polymérisation entre les différentes molécules en présence, ce qui conduit à terme à la formation de composés de très hauts poids moléculaires qui précipitent avec le temps : c'est ainsi que l'on peut expliquer la perte d'astringence du vin vieillissant [14]. La formation du trouble permanent de la bière peut également s'expliquer selon le principe décrit ci-dessus. En effet, dans les conditions faiblement acides rencontrées dans la bière lors de sa conservation, il se produit une décomposition des proanthocyanidines au sein des complexes réversibles protéines -

polyphénols existants. Celle-ci génère des carbocations dérivés des flavan-3-ols, captés par les groupements nucléophiles des protéines, notamment les groupements SH.

Les composés de hautes masses moléculaires ainsi formés sont très stables en milieu acide. Du fait de la présence de liaisons thioéthers, ces complexes acquièrent une certaine hydrophobie de surface et s'agrègent avec le temps pour former un trouble permanent dans la boisson [14]. De plus, dans le cas de la bière, il a été montré qu'une quantité non négligeable de composés glucidiques venait s'ajouter aux complexes. Cependant, ils ne semblent pas jouer de rôle structural important dans le trouble car leur élimination n'est pas nécessaire pour stabiliser les boissons [10].

Enfin, ce phénomène ne semble pas concerner exclusivement les molécules de haute masse moléculaire puisque la (+)-catéchine est également capable de faire précipiter les gliadines en solution à condition que ce polyphénol soit maintenu en concentration suffisante dans la solution [11].

2.2.2. En milieu basique ou riche en agents oxydants :

Cette seconde voie est due à des réactions d'oxydation. Elle est favorisée en milieu basique ($\text{pH} > 8$), ou en présence d'enzymes telles que la polyphénol-oxydase et/ou d'ions métalliques. Ces réactions conduisent à la formation d'orthoquinones, espèces chimiques extrêmement réactives impliquées entre autres dans le brunissement enzymatique des fruits [40], et susceptibles de réagir elles aussi avec les groupements nucléophiles des protéines pour donner des complexes à liaison covalente irréversible [14].

Du fait du caractère extrêmement réactif des quinones, ces nouvelles liaisons quinone-protéine se forment probablement de manière totalement aléatoire en divers sites des protéines. Les composés phénoliques sont tous susceptibles de les subir, que leur masse moléculaire soit faible ou importante.

On retrouve également ce type d'interactions dans le cacao : les quinones formées lors de la fermentation des fèves réagissent avec les protéines présentes dans la graine pour donner des complexes de nature irréversible à l'origine de la faible digestibilité des protéines contenues dans ce produit [27]. Suite à leur étude d'un système modèle de complexation acide caféique oxydé - résidus lysine de la caséine, HURELL *et al.* [41] ont proposé un schéma récapitulatif des réactions susceptibles de se produire dans différentes conditions de pH (figure 6).

3. Quelles sont les conséquences des interactions protéines - polyphénols sur la biodisponibilité des polyphénols ?

3.1. Conséquences des interactions se produisant dans la matrice alimentaire

Il n'existe que très peu de données dans la littérature concernant la biodisponibilité des complexes ou dérivés des polyphénols formés dans la matrice alimentaire. En effet, l'industrie les considérant souvent comme indésirables, encore que le trouble du jus de pomme ait tendance à être de plus en plus cité comme un signe de qualité, beaucoup d'auteurs se concentrent sur la recherche de moyens visant à les éliminer. Les propriétés de complexation des polyphénols sont d'ailleurs utilisées dans ce but dans le cas de la bière, puisqu'on ajoute de la polyvinylpyrrolidone lors du procédé de fabrication afin de complexer les polyphénols présents et de les éliminer par la suite par filtration afin qu'ils ne puissent pas entraîner l'apparition de troubles lors du stockage du produit [10]. Les rares études de biodisponibilité s'intéressant aux complexes d'origine alimentaire concernent plutôt les tanins et leurs effets sur les protéines, l'hypothèse des complexes d'origine alimentaire n'étant évoquée que dans les discussions. SHAHKHALILI *et al.* [27] expliquent par exemple de cette manière la faible digestibilité des protéines du cacao (complexes formés lors de la fermentation des

fèves de cacao). Il est cependant vraisemblable au vu de leur taille, que de tels complexes ne soient pas ou très peu absorbés s'ils sont indissociables dans les conditions de la digestion.

HUREL *et al.* [41] s'intéressent cependant à des complexes de taille relativement faible. Dans leur étude, ils ont formé des complexes à liaison covalente (donc proches de ceux du trouble de la bière, mais de taille moindre) entre les résidus lysine de la caséine (marqués radioactivement) et de l'acide caféique oxydé, qu'ils ont administré à des rats durant 10 jours. Le contenu en lysine marquée de divers organes ainsi que les urines, le sang et les fèces des sujets ont été analysés après 72 heures. Les résultats montrent qu'une grande partie de la radioactivité est retrouvée dans les fèces, et qu'également une partie non négligeable a été incorporée dans les organes. Ainsi, si les complexes alimentaires de forte masse moléculaire sont considérés comme peu voire non absorbables, il n'en irait pas de même pour les complexes de taille plus modeste. On peut supposer qu'ils seraient susceptibles d'être partiellement décomposés, au moins au niveau de la protéine avant une absorption éventuelle.

3.2. Conséquences de la formation de complexes dans l'organisme

La majorité des études concernant les effets "anti-nutritionnels" des tanins suggèrent qu'une grande partie des polyphénols qui précipitent avec les protéines dans l'organisme se retrouvent directement dans les fèces, si aucun système enzymatique ou bactérien ne les dissocie par la suite. Ces effets pourraient donc également être vus comme des effets "anti-polyphénols".

Toutefois, en étudiant la susceptibilité à la digestion protéolytique *in vitro* d'un système modèle, le complexe myoglobine - acide phénolique (acide caféique, chlorogénique et quinones correspondantes), KROLL *et al.* [42] ont montré que la digestibilité de la myoglobine est moins bonne lorsque celle-ci est complexée avec un acide phénolique, en particulier pour les résidus lysine et arginine, qu'ils supposent protégés par le groupement phénolique, mais que celle-ci n'est pas annulée par la complexation. De là, on peut imaginer une décomposition partielle de la protéine

complexée au polyphénol suivie d'une éventuelle absorption. Or, les complexes seraient capables de masquer le pouvoir antioxydant des polyphénols selon des études réalisés *in vitro* [29] [30].

On peut ainsi penser que des complexes peptides - polyphénols provenant d'associations plus grosses décomposées dans le tractus digestif pourraient se retrouver dans la circulation sanguine, ou que des complexes puissent se former entre les protéines du plasma et des polyphénols libres absorbés [29]. Il est ainsi important de savoir si dans les deux cas, le pouvoir antioxydant des polyphénols subsiste, ou si les effets antioxydants potentiellement bénéfiques pour l'organisme sont moindres que ce que l'on pouvait espérer en se basant sur les quantités apportées par l'alimentation.

Ces hypothèses permettent d'apporter une explication aux observations de SERAFINI *et al.* [8], que nous citons en introduction. L'annulation du pouvoir antioxydant acquis par le plasma suite à l'ajout de lait dans le thé ingéré par les sujets pourrait donc être due dans un premier temps à une complexation d'une partie des composés actifs du thé dans la tasse elle-même avant ingestion. Les composés restants pourraient ensuite se complexer avec des protéines salivaires puis intestinales, voire des protéines plasmatiques.

Il est cependant à noter que d'autres études de biodisponibilité réalisées sur ce thème montrent des résultats contraires : VAN HET HOF *et al.* [43] et HOLLMAN *et al.* [44], travaillant uniquement avec du thé noir et des quantités de lait inférieures à celles utilisées par SERAFINI *et al.* [8] (respectivement 16 % et 10 % contre 25% dans l'étude de SERAFINI *et al.* [8]) ne trouvent pas de différence dans la quantité de composés phénoliques du thé ((+)-catéchine et quercétine) retrouvés dans le sang suite à l'ingestion de thé noir avec ou sans lait. De même, l'étude d'oxydation des LDL menée *in vitro* par RICHELLE *et al.* [45] ne fait apparaître aucune différence dans les cinétiques d'oxydation de ces LDL incubés avec du thé noir avec ou sans lait. Les résultats de ces études semblent donc plus ou moins dépendre des méthodes de mesure employées (mode de préparation des échantillons, quantités ingérées...) et sont donc à manipuler avec précaution.

La différence de composition des thés vert et noir peut cependant permettre de résoudre ces contradictions. Le thé noir, résultat de la fermentation du thé vert, contient en effet essentiellement des théaflavines et des théarubigines, molécules de plus haut poids moléculaire que leur monomère, la (+)-catéchine, contenue en abondance dans le thé vert [46]. Les auteurs trouvant des résultats contredisant ceux de SERAFINI *et al.* [8] n'ont utilisé que du thé noir et des quantités moindres de lait. En l'absence de données concernant les quantités de théaflavines présentes dans le thé noir utilisé, on peut penser qu'en fait, dans leur expérience, la totalité du lait ajouté au thé noir (en plus faible quantité que dans l'expérience de SERAFINI *et al.* [8]) a pu être complexée par les théaflavines de plus haut poids moléculaire que les catéchines, laissant ces dernières libres d'être absorbées. La différence avec l'étude de SERAFINI *et al.* [8] proviendrait donc de la quantité de lait ajoutée. Mais on peut également penser que le pouvoir antioxydant mesuré dans le plasma dans cette étude ne provenait pas nécessairement des composés phénoliques.

Conclusion

Les interactions protéines - polyphénols, qu'elles aient lieu dans l'organisme ou dans l'aliment, sont à l'image de ces composés, multiples et très diverses.

Si désormais on connaît mieux la nature de ces interactions, en revanche leurs conséquences sur la biodisponibilité des polyphénols semblent encore très mal connues. De nombreuses études se sont intéressées aux tanins, n'en mettant toutefois en évidence que les aspects négatifs. Il n'existe que très peu d'études concernant la biodisponibilité des polyphénols de faible masse moléculaire, et peu d'entre elles envisagent l'influence potentielle des complexes protéines - polyphénols sur celle-ci.

De nombreux travaux restent à mener pour analyser le devenir physiologique des complexes formés dans l'aliment ou dans l'organisme, et pour savoir dans quelle mesure ces interactions s'opposent aux

effets bénéfiques escomptés des polyphénols. De telles études sont nécessaires afin de pouvoir confirmer ou infirmer les suppositions émises grâce aux études épidémiologiques.

Bibliographie

1. KÜHNAU, J. *The flavonoids: a class of semi-essential food components: their role in human nutrition*. World Rev. Nutr. Diet, **24**, 117-191, 1976.
2. SCALBERT, A., WILLIAMSON, G. *Dietary intake and bioavailability of polyphenols*. J. Nutr., **130**, 2073S-2085S, 2000.
3. BRAVO, L. *Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism and Nutritional significance*. Nutr. Rev., **56**, 317-333, 1998.
4. KELI, S. O., et al. *Dietary flavonoids, antioxidant vitamins and incidence of stroke*. Arch. Intern. Med., **156**, 637-642, 1996.
5. HERTOOG, M. G., et al. *Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen elderly study*. Lancet, **342**, 1007-1011, 1993.
6. CHUNG, K.-T., et al. *Tannins and human health : a review*. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., **38**, 421-464, 1998.
7. SOUTHON, S., et al., *Bioavailabilities of bioactive components in the human diet*. In: *Dietary anticarcinogens and antimutagens: chemical and biological aspects*, JOHNSON, I. T., FENWICK, G. R. Cambridge, U.K., 2000, pp. 43-53.
8. SERAFINI, M., et al. *In vivo antioxidant effect of green and black tea in man*. Eur. J. Clin. Nutr., **50**, 28-32, 1996.
9. ARTS, M. J. T. J., et al. *Interactions between flavonoids and proteins: effect of the total antioxidant capacity*. J. Agric. Food Chem., **50**, 1184-1187, 2002.

10. SIEBERT, K. J. *Effects of protein-polyphenol interactions on beverage haze, stabilization and analysis*. J. Agric. Food Chem., **47**, 353-362, 1999.
11. SIEBERT, K. J., et al. *Nature of polyphenol-protein interaction*. J. Agric. Food Chem., **44**, 80-85, 1996.
12. BEVERIDGE, T. *Haze and clouds in apple juices*. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., **37**, 75-91, 1997.
13. LEE, F. A., *Cocoa and chocolate*. In: Basic food chemistry second edition, Wesport, Connecticut, U.S.A., 1983, pp. 448-451.
14. HASLAM, E., LILLEY, T. H. *Natural astringency in foodstuffs - A molecular interpretation*. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., **27**, 1-40, 1988.
15. MEHANSHO, H., et al. *Induction of proline-rich glycoprotein synthesis in mouse salivary glands by isoproterenol and by tannins*. J. Biol. Chem., **260**, 4418-4423, 1985.
16. BACON, J., RHODES, M. J. C. *Binding affinity of hydrolyzable tannins to parotid saliva and to proline-rich proteins derived from it*. J. Agric. Food Chem., **48**, 838-843, 2000.
17. CHEYNIER, V. *Compte rendu de la journée ACIA: rôle des polyphénols en alimentation et santé humaine*. I.A.A., **12**, 20-24, 2000.
18. FREITAS, V., MATEUS, N. *Structural features of procyanidin interactions with salivary proteins*. J. Agric. Food Chem., **49**, 940-945, 2001.
19. FREITAS, V., MATEUS, N. *Nephelometric study of salivary protein-tannin aggregates*. J. Sci. Food Agric., **82**, 113-119, 2001.
20. REDDY, N. D., PIERSON, M. D. *Dry bean tannins : a review of nutritionnal implications*. JAOCS, **62**, 541-549, 1985.
21. BUTLER, L. G., et al. *Interaction of proteins with Sorghum tannin: mechanism, specificity and significance*. JAOCS, **61**, 916-620, 1984.

22. MITARU, B. N., et al. *The binding of dietary protein by Sorghum tannins in the digestive tract of pigs*. J. Nutr., **114**, 1787-1796, 1984.
23. EGGUM, B. O., et al. *The influence of dietary tea, coffee and cocoa on protein and energy utilization of soya-bean meal and barley in rats*. Br. J. Nutr., **50**, 197-205, 1983.
24. BRAVO, L., et al. *Dietary non-extractable condensed tannins as indigestible compounds : effects on faecal weight, and protein and fat excretion*. J. Sci. Food Agric., **63**, 63-68, 1993.
25. GRIFFITHS, A., MOSELEY, G. *Effect of diets containing field beans of high and low polyphenolic content on the activity of five enzymes in the intestines of rats*. J. Sci. Food Agric., **31**, 255-259, 1980.
26. BUTLER, L. G., ROGLER, J. C., *Biochemical mechanisms of the antinutritional effects of tannins*. In: Phenolic compounds in foods and their effect on health, I: Analysis, occurrence and chemistry, HO, C. T., LEE, C. Y., HUANG, M. T. Society, A. C., Washington, U.S.A, 1992, pp. 298-304.
27. SHAHKHALILI, Y., et al. *Effect of foods rich in polyphenols on nitrogen excretion in rats*. J. Nutr., **120**, 346-352, 1990.
28. ABIA, R., FRY, S. C. *Degradation and metabolism of ¹⁴C-labelled proanthocyanidins from carob (Ceratonia siliqua) pods in the gastrointestinal tract of the rat*. J. Agric. Food Chem., **81**, 1156-1165, 2001.
29. ARTS, M. J. T. J., et al. *Masking of antioxidant capacity by the interaction of flavonoids with protein*. Food Chem. Toxicol., **39**, 787-791, 2001.
30. RIEDL, K. M., HAGERMAN, A. E. *Tannin-protein complexes as radical scavengers sinks*. J. Agric. Food Chem., **49**, 4917-4923, 2001.
31. HASLAM, E., et al., *Polyphenol complexation, a study in molecular recognition*. In: Phenolic compounds in foods and their effect on health, I: Analysis, occurrence and chemistry, HO, C. T., LEE, C. Y., HUANG, M. T. Washington, U.S.A., 1992, pp. 8-49.

32. CHARLTON, A. J., et al. *Polyphenol/peptide binding and precipitation*. J. Agric. Food Chem., **50**, 1593-1601, 2002.
33. OH, H. I., et al. *Hydrophobic interaction in tannin-protein complexes*. J. Agric. Food Chem., **28**, 394-398, 1980.
34. SPENCER, C. M., et al. *Polyphenol complexation - some thoughts and observations*. Phytochemistry, **27**, 2397-2409, 1988.
35. BARTHOLOME, B., et al. *Interaction of low molecular weight phenolics with proteins (BSA)*. Food Chem. Toxicol., **65**, 617-621, 2000.
36. YOKOTSUKA, K., SINGLETON, V. L. *Interactive precipitation between phenolic fractions and peptides in wine-like model solutions: turbidity, particle size, and residual content as influenced by pH, temperature and peptide concentration*. Am. J. Enol. Vitic., **46**, 329-338, 1995.
37. NACZK, M., et al. *Protein precipitating capacity of crude canola tannins: effect of pH, tannin, and protein concentrations*. J. Agric. Food Chem., **44**, 2144-2148, 1996.
38. BAXTER, N. J., et al. *Multiple interactions between polyphenols and a salivary proline-rich protein repeat result in complexation and precipitation*. Biochemistry, **18**, 5566-5577, 1997.
39. SHAMANTHAKA, M. C. S., RAO, M. S. N. *Binding of chlorogenic acid by the isolated polyphenol-free IIS protein of sunflower (*Helianthus annuus*) seed*. J. Agric. Food Chem., **38**, 2103-2110, 1990.
40. NICOLAS, J. J., et al. *Enzymatic browning reactions in apple and apple products*. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., **34**, 109-154, 1994.
41. HURELL, R. F., et al. *Protein-polyphenol reactions: I. Nutritional and metabolic consequences of the reaction between oxidized caffeic acid and the lysine residues of casein*. Br. J. Nutr., **47**, 191-211, 1982.
42. KROLL, J., et al. *Physicochemical properties and susceptibility to proteolytic digestion of myoglobin-phenol derivatives*. J. Agric. Food Chem., **48**, 1580-1587, 2000.

43. VAN HET HOF, K. H., et al. *Bioavailability of catechins from tea: the effect of milk*. Eur. J. Clin. Nutr., **52**, 356-359, 1998.
44. HOLLMAN, P. C. H., et al. *Addition of milk does not affect the absorption of flavonols from tea in man*. Free Radic. Res., **34**, 297-300, 2000.
45. RICHELLE, M., et al. *Comparison of the antioxidant activity of commonly consumed polyphenolic beverages (coffee, cocoa, and tea) prepared per cup serving*. J. Agric. Food Chem., **49**, 3438-3442, 2001.
46. GRAHAM, H. N. *Green tea composition, consumption and polyphenol chemistry*. Prev. Med., **21**, 334-350, 1992.

Figures

Figure 1 : Structure chimique de quelques composés phénoliques

Figure 2 : Aires sous la courbe de cinétique de variation du pouvoir antioxydant du plasma de sujets ayant ingéré du thé vert ou noir, avec ou sans lait (d'après [8]). Les aires sous la courbe sont exprimées en $\text{mmol.L}^{-1} \times 80 \text{ min}$. Cette valeur représente le pouvoir anti-oxydant total du plasma pendant toute la durée de l'expérience.

Figure 3 : Formation de complexes^a liés aux protéines ou aux fibres^b à partir des tanins marqués au ^{14}C dans le système digestif du rat 4 heures après gavage (d'après [28])^a : Moyenne de trois essais, ? écart-type. ^b : Les fractions insolubles dans un mélange acétone/eau (3:1, v/v) extraites du système digestif ont été chauffées avec du Dodécyl Sulfate de Sodium . Le ^{14}C solubilisé a été comptabilisé comme étant lié aux protéines ; ce qui restait insoluble l'a été comme lié aux fibres.

Figure 4 : Influence de la concentration des protéines et de la nature du polyphénol sur la complexation, l'agrégation et la précipitation des protéines (d'après [14])

Figure 5 : Proposition d'un modèle moléculaire de la complexation réversible des protéines (d'après [34])

Figure 6 : Quelques réactions susceptibles de se produire entre les résidus lysine de la caséine et l'acide chlorogénique ou l'acide caféique (d'après [41]).